

В. В. Барабанова

СПЕЦИФИЧНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ КИШЕЧНИКА ХИЩНЫХ КЛЕЩЕЙ *PHYTOSEIULUS* *PERSIMILIS* И *AMBLYSEIUS LONGISPINOSUS*

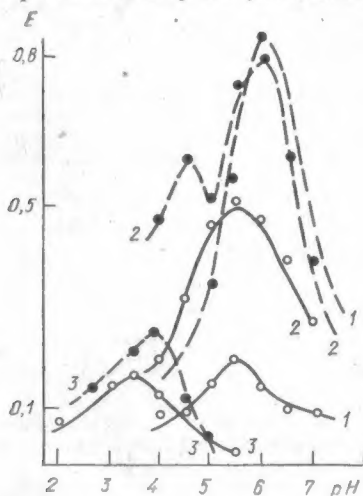
Клещ *Amblyseius longispinosus* привлек к себе внимание высокой агрессивностью к паутиным клещам, прожорливостью и рядом особенностей экологии, которые позволили сравнивать его с хорошо зарекомендовавшим себя в биологическом методе борьбы с паутиными клещами видом *Phytoseiulus persimilis* (Акимов, Колодочка, 1981; Колодочка, 1983). *P. persimilis* считается облигатным хищником паутиных клещей (Бегляров, Хлопцева, 1965), у *A. longispinosus* круг жертв более широкий, включающий не только паутиных клещей (Колодочка, 1983). Установлено, что в колониях паутиных клещей *A. longispinosus* поедает в первую очередь яйца и преимагинальные фазы развития, а *P. persimilis* — преимущественно самок жертвы.

Указанные особенности питания, вероятно, связаны с видовой специфичностью ферментных систем кишечника этих видов. Как известно, о видовой специфичности ферментных систем кишечника сравниваемых видов, а также об их пищевой специализации можно судить на основании данных об активности их пищеварительных ферментов и о значении их оптимумов (Ижевский, 1974 и др.).

У клещей *P. persimilis* и *A. longispinosus* определяли зависимость амилолитической, инвертазной и протеолитической активности от кислотности среды и концентрации субстрата, кислотность среды в кишечнике *A. longispinosus*, их фитолитический индекс, а также влияние 50-часового голодания на активность исследованных ферментов.

Клещей *P. persimilis* и *A. longispinosus* разводили в лаборатории на зараженных паутиными клещами (*Tetranychus urticae*) растениях фасоли (Колодочка, 1973, 1983 и др.). Ферменты выявляли в гомогенатах целых клещей методами, описанными ранее (Барабанова, 1975, 1980). Кислотность в кишечнике определяли, скармливая голодным клещам цветные индикаторы (Старовир, Барабанова, 1981). Результаты обрабатывались статистически (Рокицкий, 1961).

У обоих видов амилолитическая активность выявлена во всем исследованном диапазоне pH (от 4,0 до 7,0). Значительная активность проявляется у *P. persimilis* в области pH от 5,5 до 6,5 с максимумом при 6,0. У *A. longispinosus* область значительной активности фермента была шире — от 4,5 до 6,5, максимум активности проявляется в более кислой среде (pH 5,5) и менее четко выражен (рис. 1).



Инвертазная активность также отмечена во всем исследованном диапазоне pH от 4,0 до 7,0 (рис. 1). Области значительной активности и pH-оптимумы этого фермента у обоих видов находились при тех же значениях pH, что и для амилазы. Однако у *P. persimilis* отмечен еще один небольшой подъем активности фермента

Рис. 1. Зависимость амилолитической (1), глюкозидазной (2) и протеолитической (3) активности от кислотности среды у клещей:

сплошная — *A. longispinosus*; пунктир — *P. persimilis*.

при pH 4,5, но уровень его был ниже, чем в области значительной активности.

Проводилась идентификация фермента, разлагающего сахарозу. Установлено, что у обоих видов фермент не инактивируется ионами свинца (10^{-3} М азотнокислый свинец): *P. persimilis* — опыт 0,28, контроль 0,28; *A. longispinosus* — опыт 0,29, контроль 0,28. В связи с этим

фермент, расщепляющий сахарозу, у данных видов классифицировался как α -глюкозидаза.

Протеолитическую активность у обоих видов исследовали в более кислой среде (рН от 2,0 до 6,0). У *P. persimilis* активность пептидаз выявлялась при значениях рН от 3,0 до 5,0 с максимумом активности при 4,0, у *A. longispinosus* — в более широком диапазоне рН от 2,5 до 5,5 с максимумом активности при 3,5 (рис. 1).

Измерение кислотности среды в кишечнике *A. longispinosus* дало значения рН, акалогичные полученным для *P. persimilis* (Старовир, Барабанова, 1981): желудок — 6,5, дивертикулы — 6,2—6,25.

Как отмечалось, пищей исследованным видам клещей в наших экспериментах служили тетраниховые клещи, которые имеют сильно разветвленный кишечник (особенно самки), занимающий 2/3 полости их тела. Поэтому, высасывая жертву, хищный клещ поглощает в первую очередь содержимое ее кишечника, вместе с пищеварительными ферментами, которые могут усиливать действие ферментов хищника. Определяя активность пищеварительных ферментов у некоторых фаз развития жертвы, установили, что наиболее активны они у взрослых самок, а у исследовавшихся преимагинальных фаз развития и самцов активность их сравнительно низкая, либо обнаруживаются лишь следы ферментов (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Активность пищеварительных ферментов у некоторых фаз развития паутиных клещей

Фермент	Активность в мкг продуктов реакции на 100 клещей				
	яйцо	личинка	дейтохризотида	самка	самец
Амилаза	следы	0	10,1±0,12	48,0±4,07	7,9±0,89
Инвертаза	следы	4,6±0,42	0	38,4±3,20	4,8±0,91
Протеазы	0	0	0,3±0,06	6,8±0,11	0

Для того, чтобы выяснить возможную роль пищеварительных ферментов жертвы в пищеварении исследованных фитосейид, определяли активность пищеварительных гидролаз хищника после 50-часового голодания. В этом случае у *P. persimilis* активность исследованных ферментов была практически такая же, как и у сытых клещей, а у *A. longispinosus* амилалитическая активность не выявлялась, глюкозидазная составляла 17 %, а протеолитическая — 61 % активности сытых клещей (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Активность пищеварительных ферментов у голодных и сытых фитосейид

Фермент	Активность в мкг продуктов реакции на 100 клещей			
	<i>P. persimilis</i>		<i>A. longispinosus</i>	
	сытые	голодные	сытые	голодные
Амилаза	20,1±1,49	17,6±0,11	9,8±0,84	0
Глюкозидаза	28,1±1,84	28,4±2,11	24,4±1,78	4,2±0,58
Пептидаза	1,8±0,35	1,7±0,41	0,65±0,118	0,4±0,089

Не менее важным фактором, определяющим интенсивность пищеварительных процессов в кишечнике, является концентрация в пище веществ, служащих субстратами для пищеварительных ферментов. Определение скорости реакции амилазы как функции концентрации крахмала проводили при 6 его концентрациях от 0,05 до 2,0 %. (Более высокие концентрации не использовались, так как их вязкость затрудняет работу с малыми объемами.) Зависимость активности амилазы от кон-

центрации субстрата при оптимальных pH у обоих видов носит одинаковый характер, образование редуцирующих сахаров при действии фермента возрастает с увеличением концентрации крахмала до 0,5 % (рис. 2). На основании данных о зависимости скорости ферментативного расщепления субстрата от его концентрации определяли константы Михаэлиса и скорости ферментативной реакции путем построения графика по Лайнуиверу — Бэрку (Диксон, Уэбб, 1966). Абсолютное зна-

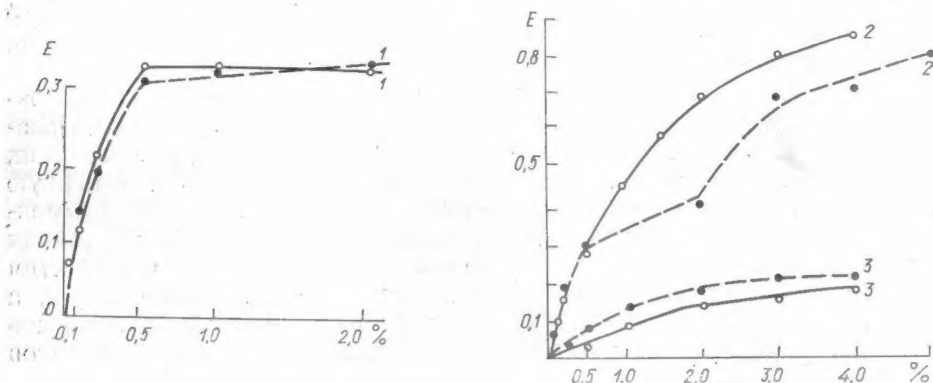


Рис. 2. Влияние концентрации субстрата на амилолитическую (1), глюкозидазную (2) и протеолитическую (3) активность у клещей:

1 — *A. longispinosus*; 2 — *P. persimilis*; E — активность ферментов в величинах оптической плотности.

чение активности амилазы у *P. persimilis* в 2,5 раза выше, чем у *A. longispinosus*. Различия между максимальными скоростями реакции у них незначительные. V_{\max} у *A. longispinosus* — 0,31, у *P. persimilis* — 0,36. Однако значительные различия наблюдаются между K_m : *A. longispinosus* — 0,049, *P. persimilis* — 0,21.

У *A. longispinosus* определяли также фитолитический индекс, который может служить показателем степени хищничества вида. Скорость расщепления крахмала амилазой у данного вида, в отличие от этого же показателя у *P. persimilis* (Старовир, Барабанова, 1981), была выше скорости расщепления гликогена: *A. longispinosus* — $\frac{0,13}{0,10} = 1,3$, *P. persimilis* — $\frac{0,30}{0,29} = 1,04$.

Зависимость глюкозидазной активности от концентрации субстрата определяли при 8 концентрациях сахарозы от 0,05 до 5,0 %. Начальная скорость реакции глюкозидазы как функция концентрации субстрата у исследованных видов различается. При действии фермента *A. longispinosus* на исследованные концентрации сахарозы количество редуцирующих сахаров увеличивалось до 4,0 %-ной концентрации, а для фермента *P. persimilis* оптимальная концентрация сахарозы будет, вероятно, выше (рис. 2). Абсолютные значения активности фермента у обоих видов практически одинаковые (табл. 2), но отмечаются небольшие различия между максимальными скоростями реакции (*A. longispinosus* — 0,74, *P. persimilis* — 0,59), а K_m у *A. longispinosus* в 2 раза больше, чем у *P. persimilis* (рис. 3, б).

При определении концентрации желатины, оптимальной для действия пептидаз клещей, исследовали 6 ее концентраций от 0,1 до 4,0 %. Более высокие концентрации не пригодны для работы с малыми объемами. Зависимость протеолитической активности от концентрации субстрата у обоих видов неодинаковая (рис. 2). Абсолютное значение протеолитической активности у *P. persimilis* почти в 2 раза больше, чем у *A. longispinosus* (табл. 2). Различия между максимальными скоростя-

ми реакции небольшие: *A. longispinosus* — 0,4 и *P. persimilis* — 0,22, но значительно различаются K_m их ферментов (рис. 3, в).

В функционировании ферментных систем кишечника выявлены определенные черты сходства и отличия. Существенную роль в приспособлении к особенностям пищи играют оптимумы pH пищеварительных ферментов и соответствие их кислотности среды в кишечнике и кислотности пищи. У каждого из исследованных видов карбогидразы имеют

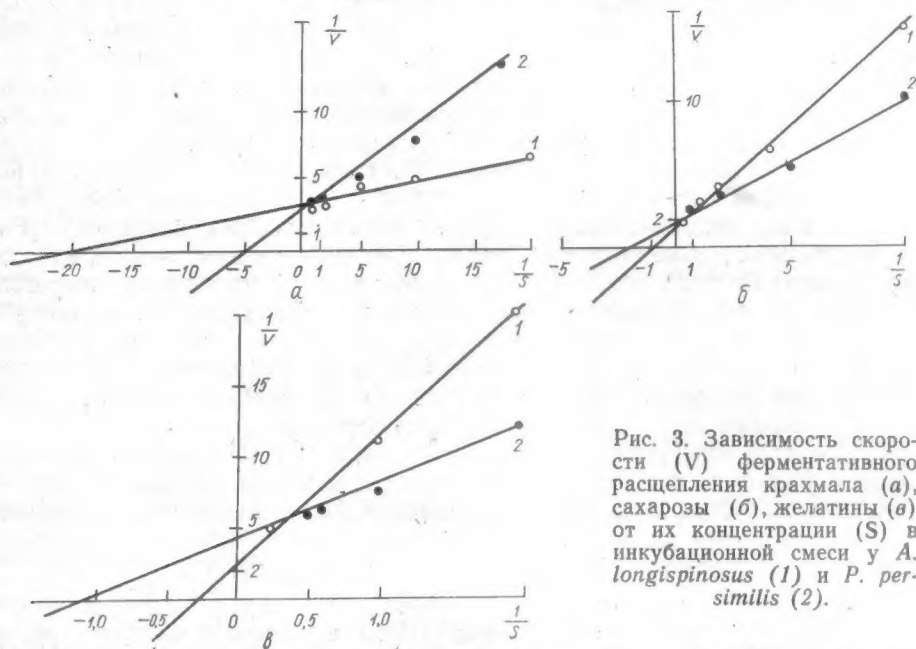


Рис. 3. Зависимость скорости (V) ферментативного расщепления крахмала (а), сахарозы (б), желатин (в) от их концентрации (S) в инкубационной смеси у *A. longispinosus* (1) и *P. persimilis* (2).

одинаковые pH-оптимумы, которые совпадают с pH-оптимумами аналогичных ферментов жертвы и близки к кислотности среды в кишечнике жертвы и хищника (Акимов, Барабанова, 1977). С одной стороны, такое совпадение способствует более полному перевариванию в полости кишечника углеводной пищи. С другой стороны, следствием этого является чуткая реакция ферментов на изменение кислотности пищи, ограничивающая ее разнообразие. Для пищеварительных ферментов *A. longispinosus* характерны более кислые (на 0,5 pH) оптимумы активности, которые для карбогидраз находятся в пределах кислотности среды в кишечнике клещей. Поскольку кислотность пищи с момента попадания ее в кишечник и по мере прохождения по нему может меняться иногда в значительных пределах (Renner, 1971), то такие различия можно считать несущественными. Для всех пищеварительных гидролаз *A. longispinosus* характерна также более широкая область значительной активности ферментов, которая обеспечивает этому виду более успешное переваривание и усвоение соответствующих компонентов пищи в более широких пределах кислотности среды. В первую очередь это относится к белковым субстратам, так как оптимальные значения кислотности среды для действия пептидаз у данных видов, как и у других исследованных фитосейид (Барабанова, 1980; Старовир, Барабанова, 1981), не совпадают с кислотностью среды в кишечнике.

У видов, питающихся одинаковым или мало отличающимся кормом, потребности в питательных веществах могут быть различные. Это должно найти отражение в зависимости активности пищеварительных ферментов от концентрации субстратов, могут отличаться и такие их характеристики, как K_m и V_{max} . У исследованных фитосейид, пища которых не должна значительно различаться, оптимальные концентрации субстратов для изучавшихся ферментов, как и максимальные скорости

ферментативных реакций, отличаются мало. Однако исследованные виды значительно различаются по уровню активности амилазы и пептидазы, а следовательно, и по соотношению активности этих ферментов в ферментном спектре клещей. Константы Михаэлиса всех ферментов у этих видов также существенно различаются. Поскольку K_m — величина обратная величине сродства фермента к субстрату, то имеющиеся различия в активности ферментов у данных видов обусловлены факторами, влияющими на образование фермент-субстратного комплекса. Даже в том случае, когда активность фермента одинаковая (глюкозидаза), отношение фермента каждого из видов к субстрату неодинаковое.

Достаточно высокий фитолитический индекс у *A. longispinosus*, выше, чем у *P. persimilis*. В целом для фитосейид характерен высокий фитолитический индекс, не свойственный хищникам, что, вероятнее всего, объясняется особенностями их пищи. Пищеварительные ферменты исследованных видов по-разному реагируют также на голодание. Ферменты *A. longispinosus*, как и у других исследованных фитосейид (Барabanова, 1980), частично или полностью прекращают секретировать, в то время как у *P. persimilis* после 50-часового голодания секреция ферментов не прекращается. Причем снижение активности пищеварительных ферментов хищника скорее всего нельзя связать с прекращением действия гидролаз жертвы, поскольку у предпочитаемых *A. longispinosus* фаз жертвы собственная активность пищеварительных ферментов небольшая, а у *P. persimilis* — наоборот.

Таким образом, у исследованных видов фитосейид выявлены определенные различия в функционировании ферментных систем их кишечника, которые и обуславливают, вероятнее всего, различия в их пищевой специализации.

Specificity of Some Intestinal Enzymatic Systems in Predaceous Mites (*Phytoseilus persimilis* and *Amblyseilus longispinosus*). Barabanova V. V. — Vestn. zool., 1985, No. 5. Some common and different features in the intestinal enzymatic system functions were found in two species under study. Carbohydrases in both species have the same hydrogen-ion concentration optima that coincide with pH optima of similar enzymes of the prey and are close to the intestinal pH value. Absolute glucosidase activity values and relation of amylase activity to substrate concentration are parallel in both. Maximal speed of enzymatic reactions and optimal substrate concentrations of glucosidase and peptidase are slightly different: pH optima of all the studied enzymes differ by 0.5, enzyme activity range — by 1.0 pH. The species considerably differ in absolute values of amylase and protease activity, which is associated with different carbohydrases ratio in enzymatic spectrum and, thus, in different K_m values.

- Акимов И. А., Барabanова В. В. Морфологические и функциональные особенности пищеварительной системы тетраниховых клещей (Trombidiformes, Tetranychoidae). — Энтомол. обозрение, 1977, 54, № 4, с. 912—922.
- Акимов И. А., Колодочка Л. А. *Amblyseilus longispinosus* (Evans) (Parasitiformes, Phytoseiidae) — перспективный хищный клещ для биологического метода. — Вест. зоологии, 1981, № 5, с. 78—81.
- Акимов И. А., Старовир И. С. Морфо-функциональные особенности пищеварительной системы клеща *Amblyseilus andersoni* (Gamasoidea, Phytoseiidae). — Там же, 1977, № 3, с. 82—86.
- Барabanова В. В. Некоторые пищеварительные ферменты клещей рода *Tetranychus*. — Докл. АН УССР. Сер. Б, 1975, № 11, с. 1028—1030.
- Барabanова В. В. Особенности пищеварения у некоторых клещей фитосейид (Gamasina, Phytoseiidae). — Вестн. зоологии, 1980, № 5, с. 92—96.
- Бегляров Г. А., Хлопцева Р. И. Развитие хищных клещей *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot при питании различными видами паутиных клещей. — В кн.: Исследование по биологическим методам борьбы с вредителями сельского и лесного хозяйств: Докл. симп. 17—20.XI.1964. Новосибирск, 1965, с. 15—17.
- Бейли Д. Методы химии белков. — М.: Мир, 1965. — 265 с.
- Диксон М., Узбб Э. Ферменты. — М.: Мир, 1966. — 128 с.
- Ижевский С. С. Функциональные особенности ферментных систем кишечника насекомых-фитофагов. — В кн.: Вопросы экологической физиологии беспозвоночных, М.: Наука, 1974, с. 156—175.

- Колодочка Л. О. Лабораторне розведення місцевих видів кліщів-фітосеїд (Acarina, Phytoseiidae).— 36. прац. Зоол. музею, 1973, 35, с. 8—9.
- Колодочка Л. А. Экологические особенности хищного клеща *Amblyseius longispinosus*.— Вестн. зоологии, 1983, № 5, с. 36—42.
- Колодочка Л. А. Хищные клещи-фитосейды *Amblyseius longispinosus* и *Phytoseiulus persimilis*, как акарифаги в закрытом грунте.— В кн.: Тез. докл. совещ. «Биологический метод борьбы с вредителями и болезнями растений в защищенном грунте», Рига, 2—6.X.1983 г. Рига, 1983, с. 28—31.
- Рокицкий П. Ф. Основы вариационной статистики для биологов.— Минск.: Изд-во Белорус. ун-та, 1961.— 217 с.
- Старовир И. С., Барабанова В. В. Процесс переваривания пищи у клещей фитосейд *Phytoseiulus persimilis*, *Amblyseius andersoni* и *A. reductus* (Gamasoidea, Phytoseiidae).— Вестн. зоологии, 1981, № 1, с. 77—79.
- Renner K. Untersuchungen am Darmtrakt von *Gastroidea viridula* Deg. (Coleoptera, Chrysomelidae).— Zool. Anz., 1971, 186, 3/4, S. 230—240.

Институт зоологии им. И. И. Шмальгаузена
АН УССР

Получено 30.12.83

УДК 591.9(23.07)

А. Е. Луговой, А. В. Дикий

ПТИЦЫ ГОРНЫХ ВОДОТОКОВ В КАЧЕСТВЕ ОБЪЕКТОВ МОНИТОРИНГА

Среди птиц, наиболее пригодных для организации экологического мониторинга, называются голенастые и хищные (Филиппова, Фомин, Инсаров и др., 1983). Однако в горных лесах Карпат нет колониальных поселений голенастых, а учет и слежение за гнездованием хищников из-за сложности рельефа чрезвычайно трудоемки и неточны.

Проведение учетов прочих видов птиц на постоянных маршрутах либо площадках по голосам с дальнейшей экстраполяцией полученных данных на территорию, где осуществляется многолетнее слежение за динамикой природных процессов, имеет ряд существенных недостатков. Результаты таких учетов часто не отражают истинного состояния населения птиц, поскольку зависят от большого числа непредсказуемых факторов: различной слышимости голосов птиц на разном удалении от шумящих потоков; несовпадений времени активного пения птиц на склонах разной экспозиции; различной активности птиц при неодинаковых погодных условиях; неадекватности слуха и опыта у разных учетчиков и т. д. Все это затрудняет использование полученных данных для многолетнего мониторинга, цель которого — определить объективные изменения, происходящие в природе под воздействием естественных и антропогенных процессов.

Нам представляется целесообразным в качестве постоянных объектов для орнитологического мониторинга в горах избрать птиц, населяющих водотоки (речки, ручьи). Горные водные магистрали, как правило, вполне доступны для визуального обследования на всем их протяжении — от истоков до выхода на равнину. Это позволяет проводить практически абсолютный учет живущих там околотовных птиц (горный рельеф исключает удаление околотовных птиц далеко в сторону от русла реки). Полученные сведения легко поддаются картированию и сравнению по сезонам года и за ряд лет. Весьма существенно и то обстоятельство, что горные водотоки проходят через все вертикальные растительные пояса. Птицы горных водотоков, будучи трофически связанными с водными организмами, наиболее тонко реагирующими на изменения внешней среды, должны синхронно отражать тенденции этих изменений. Мы провели первичное обследование птиц, населяющих водотоки Карпатского заповедника.

Заповедник расположен на южных мегасклонах Советских Карпат в пределах Закарпатской обл. Он состоит из небольшого Черногорского массива на одноименном хребте Раховского р-на (около 2 тыс. га) и Угольско-Широколужанского массива в Полонинских Карпатах в Тячевском р-не (около 10 тыс. га). Летние учеты проведены на речках